CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Tsukuba Repository

Highly efficient eradication of intracranial glioblastoma using Eg5 siRNA combined with HVJ envelope

著者	松田 真秀
内容記述	Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 5492, 2010.3.25 Offprint. Originally published in: Gene therapy, v. 16, pp. 1465-1476 (Dec. 2009), c2009 Joint authors: T. Yamamoto ... [et al.] Includes supplementary treatises Includes bibliographical references
発行年	2010
その他のタイトル	Eg5 siRNA封入HVJ envelopeベクターの脳内グリオーマモデルに対する相乗的抗腫瘍効果
URL	http://hdl.handle.net/2241/106428

【341】

氏　名（本籍）	松　田　真　秀（埼 玉 県） （まつだ まさひで）
学 位 の 種 類	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	博　甲　第　5492　号
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科
学 位 論 文 題 目	**Highly efficient eradication of intracranial glioblastoma using Eg5 siRNA combined with HVJ envelope** （Eg5 siRNA 封入 HVJ envelope ベクターの脳内グリオーマモデルに対する相乗的抗腫瘍効果）

主　査	筑波大学教授	医学博士	坪　井　康　次
副　査	筑波大学教授	薬学博士	金　保　安　則
副　査	筑波大学准教授	博士（医学）	和　田　哲　郎
副　査	筑波大学講師	博士（医学）	鈴　川　和　己

論 文 の 内 容 の 要 旨

（目的）

膠芽腫に対する、RNAi 機構を応用した新たな分子標的治療の開発を目的とした。

（対象と方法）

ベクターとして、ウイルス粒子表面の 2 つの糖蛋白質 F,HN による膜融合能を有する HVJ（hemagglutinating virus of Japan；Sendai virus）を紫外線照射で不活化した HVJ envelope vector（HVJ-E）を用いた。標的分子は、M 期特異的に機能する微小管結合モーター蛋白質の一種で、機能的な紡錘体形成に深く関与している Eg5 とした。ヒト膠芽腫細胞 （A-172、T98G、U-118MG）を用いた培養細胞実験およびヒト膠芽腫細胞株（U-118MG）を免疫不全マウスに移植した腫瘍モデルを用いた動物実験を行い、腫瘍局所への投与による抗腫瘍効果とその機序に関する解析を行った。

（結果）

培養細胞では、HVJ-E により Eg5 siRNA が効率的に導入され、その結果 Eg5 がノックダウンされることが蛋白質レベルで確認できた。 HVJ-E の殺細胞効果は細胞株によって異なったが、Eg5 ノックダウンを組み合わせることにより、全ての細胞株において分裂期細胞における紡錘体の単極化が生じ、アポトーシスが誘導された。皮内腫瘍モデルにおいては、Eg5 siRNA を封入した HVJ-E を腫瘍内に局所投与したところ、腫瘍組織における Eg5 のノックダウンが生じ、培養細胞実験と同様に紡錘体の単極化とアポトーシスが誘導された。HVJ-E 単独の投与によってもある程度の腫瘍増殖抑制効果がみられたが、Eg5 siRNA を導入することにより、全ての皮内腫瘍モデルにおいて腫瘍の消失が認められた。同様に、脳腫瘍モデルにおいて、Eg5 siRNA を封入した HVJ-E を定位的に腫瘍内に局所投与したところ、腫瘍細胞ではアポトーシスが誘導されたが、周囲の正常脳組織には明らかな影響は認められなかった。その結果、生存期間の有意な延長が得られ、80％の脳腫瘍モデルにおいて腫瘍の消失が認められた。

（考察）

HVJ-E 自体はタイプⅠインターフェロンによる直接的な抗腫瘍効果、および抗腫瘍免疫賦活化を介した抗腫瘍効果を有する。さらに、有糸分裂紡錘体阻害は、膠芽腫を始めとする多くの癌治療において、有力なターゲットであると考えられており、今回用いた Eg5 のような微小管結合モーター蛋白質をターゲットとすることにより、選択的に腫瘍細胞にアポトーシスを誘導することができたと考えられる。全ての腫瘍細胞に標的分子を導入することは不可能であるが、今回の方法では Eg5 siRNA が導入された腫瘍細胞にはアポトーシスを誘導し、残りの腫瘍細胞は細胞性免疫を賦活することにより消失させうると考えられる。今回の実験系は免疫不全マウスを用いているため、抗腫瘍効果に細胞傷害性 T 細胞の影響は反映されていないが、臨床においては、このような細胞傷害性 T 細胞の活性化によるさらなる抗腫瘍効果の増強が期待される。以上から、Eg5 siRNA の導入による抗腫瘍効果と vector である HVJ-E 自体による抗腫瘍効果を組み合わせることは、膠芽腫治療にとって新たな治療戦略となりうると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

松田真秀氏は、筑波大学附属病院脳神経外科ならびに人間総合科学研究科において難治性である悪性神経膠腫に対する治療の研究に取り組んできた。本研究において、HVJ-E vector と Eg5 siRNA の導入を組み合わせた遺伝子療法の有効性を培養細胞レベルと動物実験で明らかにした意義は大きい。本研究の成果は、すでに同分野で高い評価を得ている英文学術誌に受理されている。本審査では、質疑応答などから研究に対する姿勢も高く評価された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。